様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９　（共通）

科研費 KAKENHI

科学研究費助成事業　　研究成果報告書

令和　６ 年　５ 月　６ 日現在

機関番号：１７４０１
研究種目：基盤研究(C)（一般）
研究期間：2021～2023
課題番号：２１Ｋ０８７３６

研究課題名（和文）革新的治療法開発を目指した食道胃接合部腺癌の網羅的ゲノム解析

研究課題名（英文）Comprehensive genomic analysis of esophagogastric junction adenocarcinoma for treatment inovation

研究代表者
原田　和人（Harada, Kazuto）

熊本大学・大学院生命科学研究部（医）・特定研究員

研究者番号：７０６０８８６９

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）　　3,200,000円

研究成果の概要（和文）： MD Anderson Cancer Centerで術前治療として化学放射線療法がおこなわれて手術された症例で組織学的完全奏功をした症例20例と治療抵抗性を示した症例20例の治療前凍結組織よりDNAとRNAを採取した。DNAとRNAのクオリティーチェックを行い、NovaSeq6000を用いたExome/RNA sequencingを行った。
　組織学的完全奏功を得られた症例で再発した症例と再発しなかった症例のゲノムを比較すると再発症例で有意に増加している遺伝子が７４種類、再発しなかった症例で有意に増加している遺伝子が２３種類同定された。

研究成果の学術的意義や社会的意義
　我々は食道胃接合部腺癌において、化学放射線療法で完全寛解した症例と抵抗性を示した症例のゲノムを網羅的に解析した。完全寛解した症例で再発した症例と再発しなかった症例を比較すると、再発症例で有意に増加している遺伝子が７４種類、再発しなかった症例で有意に増加している遺伝子２３種類が同定された。これらの遺伝子は新たな治療ターゲットや予後規定因子になり得る可能性がある。研究を継続して治療に最も影響を及ぼす遺伝子を同定することができれば、新たな治療薬の発明に寄与すると考えられる。

研究成果の概要（英文）：DNA and RNA were corrected from 40 frozen pretreatment tissue of esophagogastric junction adenocarcinoma treated with chemoradiotherapy. Twenty cases had complete response, and 20 cases had resistant for treatment. After quality check of RNA, RNA sequencing was performed by using NovaSeq6000.
 In complete response group, we compared RNA expression between cases with and without recurrence. We finally found out that 74 genes were upregulated in recurrent group and 23 genes were upregulated in non-recurrent group. These genes could be associated with efficacy of treatment and potencially targets for new treatments.

研究分野：がんゲノム

キーワード：食道胃接合部腺癌　次世代シークエンサー　がんゲノム　個別化治療

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９（共通）

1. 研究開始当初の背景

食道胃接合部腺癌は本邦において急激に罹患率が上昇しており、最も注目を集めている癌腫の一つである。集学的治療の進歩にも関わらず、食道胃接合部癌の 5 年生存率は 25%と不良であり、新規治療法の開発や新規バイオマーカーの同定は喫緊の課題であるといえる。術前化学療法に感受性のある症例は予後が良好であることがわかっている (Harada K et al. Ann Surg. 2020)。個々の症例に応じた最適な術前治療が必要であり、治療感受性を予測するバイオマーカーや新規治療薬の開発が望まれている。その為にも網羅的なゲノム解析により、食道胃接合部腺癌の治療抵抗性に関与する分子生物学的メカニズムを明らかにすることが必須であると考えらる。

2. 研究の目的

本研究の目的は、術前化学放射線療法により組織学的完全奏功をした症例と治療に対して抵抗性を示した症例を Exome/RNA sequencing を用いて比較することで、治療感受性に基づいた網羅的なゲノム解析を行うことである。食道胃接合部腺癌の抗癌剤耐性メカニズムを明らかにし、新規治療ターゲットおよび治療感受性予測因子を同定する事でゲノムに基づいた個別化医療の展開を目指している

3. 研究の方法

A) 臨床サンプルからの DNA/RNA 抽出

当科および共同研究先である MD Anderson Cancer Center で食道胃接合部腺癌の治療前凍結組織より DNA と RNA を抽出した。

B) Exome/RNA sequencing による網羅的ゲノム解析

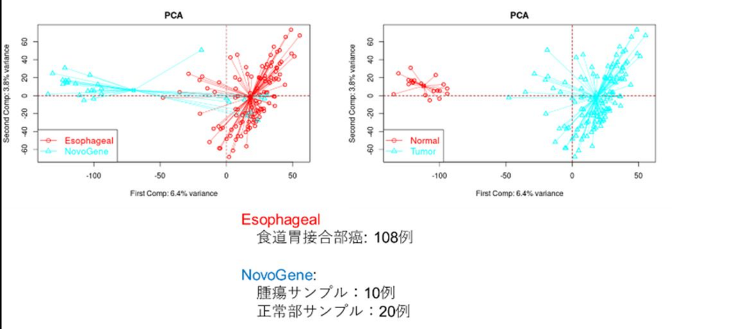
術前化学放射線療法後の評価にて組織学的完全奏功をした症例 20 例と治療抵抗性を示した症例 20 例の RNA を用いて NovaSeq6000 を用いて Exome/RNA sequencing を行い、網羅的にゲノム解析した。

4. 研究成果

A) 臨床サンプルからの DNA/RNA 抽出

120 例の食道胃接合部腺癌の治療前凍結組織より DNA と RNA を抽出し、NovaSeq6000 を用いて Exome/RNA sequencing を行った（図１）。

図１：Deconvolution by DeMixT with Batch Effect Correction



B) Exome/RNA sequencing による網羅的ゲノム解析

①寛解症例と治療治療抵抗性の比較

まずは寛解症例と治療に抵抗性のある症例の Tumor Transcript Proportions を比較した。2 群間に有意な差は認めなかった (図2)。Tumor Purities についても検討したが、2 群間に有意な差は認められなかった (図3)。

図2 ：Tumor Transcript Proportions (DeMixT)

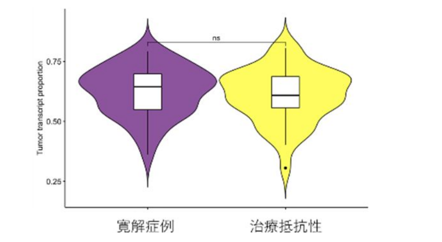
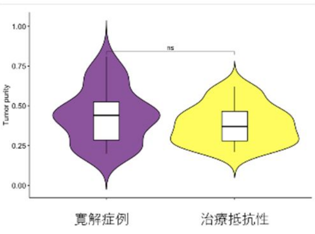


図3 ：Tumor Purities (ASCAT)



②再発症例と無再発症例の比較

組織学的完全奏功を得られた症例で再発した症例と再発しなかった症例のゲノムを比較すると再発症例で有意に増加している遺伝子が74種類、再発しなかった症例で有意に増加している遺伝子が23種類同定された (図4)。

2 群間で Gene-set analysis を行うと様々な Pathway が再発症例で活性化されていた。MYC ターゲットに関する遺伝子群だけが無再発症例で活性化されていた。

図4 ：Comparisons between Relapse and Non-relapse

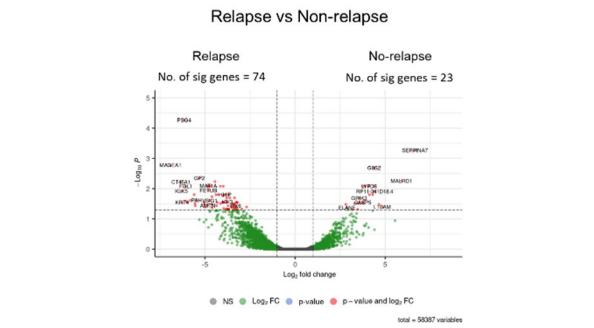
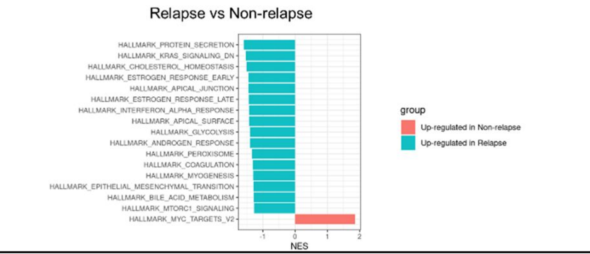


図5 ：Gene-set analysis between Relapse and Non-relapse



５．主な発表論文等

〔雑誌論文〕　計0件

〔学会発表〕　計0件

〔図書〕　計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

－

６．研究組織

	氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
研究分担者	馬場　秀夫 (Baba Hideo) (20240905)	熊本大学・大学院生命科学研究部（医）・教授 (17401)	
研究分担者	岩槻　政晃 (Iwatsuki Masaaki) (50452777)	熊本大学・大学院生命科学研究部（医）・助教 (17401)	
研究分担者	今村　裕 (Imamura Yu) (70583045)	公益財団法人がん研究会・有明病院　消化器外科・医長 (72602)	

７．科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕　計0件

８．本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関